

تأثیر نانو ذرات نقره بر کراتینین و BUN و الکترولیت‌های خون در جنس نر موش سفید آزمایشگاهی

رویا جعفرزاده سامانی، محمد سعید حیدر نژاد^{*}، سیمین آقایی وندا

گروه جانورشناسی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲

چکیده:

زمینه و هدف: نانو ذرات نقره (SNPS) اخیراً توجه قابل ملاحظه‌ای را به خود جلب کرده است؛ اما بررسی سمیت این نانو ذرات کمتر مورد توجه واقع شده است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر خوراکی نانو ذرات نقره بر پارامترهای بیوشیمیایی کلیه (کراتینین و BUN) و الکترولیت‌های خون در جنس نر موش سفید آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۵ سر موش بальب سی (Balb/c) نر در حدود ۴ هفته (با وزن 24 ± 3 گرم) به طور تصادفی در ۳ گروه ۱۵ سری (تیمار ۱، تیمار ۲، کنترل) مورد بررسی قرار گرفتند. درمان خوراکی و روزانه و به مدت ۱۴ روز در گروه تیمار ۱ با محلول 2 ppm نانو ذرات نقره و برای گروه تیمار ۲ با 50 ppm نانو ذرات نقره و گروه کنترل با همان حجم آب مقطر شروع شد. سپس در روزهای ۷، ۱۴ و خون‌گیری مستقیم از قلب صورت گرفت و میانگین غلظت سرمی کراتینین، (نیترژن اوره خون) BUN، سدیم، پتاسیم، در گروه کنترل و تیمار با 20 ppm نانو ذرات و تیمار 50 ppm مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج با استفاده از نرم‌افزار 17 ppm و به روش آنالیز واریانس دوطرفه در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین سطح سرمی کراتینین در روز دوم، در گروه 20 ppm نانو ذرات نقره نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ($P > 0.05$)؛ اما در سطح نیترژن اوره خون (BUN) در گروه 20 ppm و 50 ppm نانو ذرات نقره از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد ($P > 0.05$)؛ همچنین میانگین سطح سرمی سدیم در روز چهاردهم در گروه 20 ppm نانو ذرات نقره و گروه کنترل افزایش معنی‌داری مشاهده گردید ($P < 0.05$). در میانگین سطح سرمی پتاسیم در روز دوم، در گروه 50 ppm نانو ذرات نقره نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$) و روز هفتم در گروه 20 ppm نانو ذرات نقره نسبت به کنترل کاهش و در روز چهاردهم هر دو گروه 20 ppm و 50 ppm نانو ذرات نقره با گروه کنترل کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که درمان خوراکی نانو ذرات نقره بر روی پارامترهای بیوشیمیایی کلیه و الکترولیت‌ها خون اثر منفی می‌گذارد و باید در مصرف آن‌ها احتیاط لازم صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: نانو ذرات نقره، پارامترهای بیوشیمیایی، کراتینین، نیترژن اوره خون، سدیم، پتاسیم.

مقدمه:

نانو ذرات به دلیل اندازه بسیار کوچک خود، خصوصیات منحصر به فرد فیزیکوشیمیایی را دارا می‌باشند و بدین ترتیب می‌توانند خطرات پیش‌بینی نشده‌ای را برای سلامتی انسان در پی داشته باشند. با افزایش توجه به سمیت بالقوه آن‌ها، اثرات مضر نانو

در سال‌های اخیر، با پیشرفت فن‌آوری نانو و علم مواد، نانو مواد مهندسی شده به طور گسترده تولید شده و مورد استفاده قرار می‌گیرند. همزمان با افزایش استفاده از این مواد، مردم به طور روز افزونی در معرض انواع نانو ذرات تولید شده قرار می‌گیرند.

ذرات به میزان زیادی در آزمایشگاه‌ها و در محیط طبیعی مورد بررسی قرار می‌گیرد (۱).

نانوذرات نقره، ذرات کوچکی از فلز نقره با قطری بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر هستند. این ذرات خواص غیر معمول فیزیکوشیمیایی از خود نشان می‌دهند. بیش از صد سال از شناسایی آن‌ها گذشته است. قبل از کشف پنی‌سیلین در سال ۱۹۲۸، کلوتید نقره برای درمان بسیاری از عفونت‌ها و بیماری‌ها استفاده می‌شده است و ویژگی مهم نانو ذرات نقره نسبت بالای سطح به حجم آن است (۲).

از جمله کاربردهای پزشکی نانو ذرات نقره می‌توان به کاربرد آن‌ها در تشخیص و درمان بیماری، انتقال دارو و وسایل پزشکی اشاره کرد. نانو ذرات نقره در ابزارها و مواد پزشکی مورد استفاده در جراحی، بیهوشی، دانش قلب‌شناسی و در دانش مطالعه بیماری‌های دستگاه ادراری- تناسلی (Urology) مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). با استفاده از نانو ذرات نقره مانع اتصال ویروس HIV-1 به سلول میزبان خود می‌شود (۴). نانو ذرات نقره در ارتوپدی و همچنین در پوشش‌های زخم، جوراب‌های افراد دیابتی، مواد استریلیزاسیون بیمارستانی و پارچه‌های پزشکی، در دندان پزشکی برای ساخت دندان مصنوعی، در چشم پزشکی برای محافظت از چشم و نیز پوشش لنزهای تماسی استفاده می‌گردد (۵). نانو ذرات نقره در شناسایی سلول‌های سرطانی و درمان آماس پوست، زخم روده و جوش صورت مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶، ۷).

مطالعات *In vitro* و *In vivo* نانو ذرات نقره نشان داده که در گونه‌های پستانداران، نانو ذرات می‌تواند وارد سلول شوند و به آن آسیب برسانند (۸). مهم‌ترین خصوصیت نانو ذرات که منجر به سمیت آن‌ها می‌شود، اندازه بسیار کوچک آن‌هاست. این اندازه کوچک که کوچک‌تر از سلول و اندام‌های سلولی هستند به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به درون ساختارهای زیستی نفوذ کنند و عملکرد طبیعی آن‌ها را مختل نمایند. نانو ذرات از

طرق مختلف منجر به سمیت می‌شوند، از جمله: التهاب بافت‌ها، تغییر اکسیداسیون سلولی به دلیل عملکرد غیر طبیعی و یا مرگ سلول است (۹).

با وجود فواید نانو ذرات، از آنجایی که ساخت و استفاده از نانو ذرات در حال افزایش است، نگرانی‌هایی در مورد خطرات احتمالی نانو ذرات بر سلامت انسان و محیط زیست وجود دارد (۱۰). خطرات احتمالی نانو ذرات به علت اندازه کوچک، بالا بودن نسبت سطح به حجم و توانایی تولید ROS (اکسیژن فعال گونه‌ای) است (۱۱)؛ بنابراین هر چه اندازه یک نانو ذره کوچک‌تر باشد جذب آن‌ها آسان‌تر و سمیت آن‌ها نیز بیش‌تر خواهد بود (۱۲). ویژگی‌های جدید نانو ذرات عبارتند از: انحلال‌پذیری، فعالیت و تحرک بسیار زیاد در درون بدن انسان و سایر موجودات و توانایی نفوذ به غشاهای زیستی است (۱۳). نانو ذرات، بزرگ‌ترین سطح واکنش‌پذیری را داشته و بنابراین بیشترین خطر را برای تخریب غشاء سلول دارند، ذرات کوچک‌تر به راحتی توسط میکروارگانیسم‌ها جذب می‌شوند و ممکن است در ساختارهای داخلی آن‌ها مداخله کنند (۱۴). خصوصیتی مانند اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم زیاد و واکنش‌پذیری بالا، باعث سمیت ذاتی نانو ذرات می‌شود (۱۵). نانو ذرات نقره می‌توانند مسمومیت کبدی را ایجاد کنند. نانو ذرات نقره توسط ماکروفاژها با عمل فاگوسیتوز از بین می‌روند، تکرار این فرآیند رادیکال‌های آزاد را تولید می‌کند (۱۶).

مطالعات گذشته نشان داد که نانو ذرات نقره باعث سمیت کبد و کلیه می‌شوند و دوز بالای آن منجر به مرگ می‌شود. نانو ذرات نقره همچنین باعث تغییرات هیستوپاتولوژیکال در کبد و کلیه و طحال می‌گردد که تمایل یون‌های نقره برای اتصال به گروه‌های تیول در کبد را نشان می‌دهد و در نتیجه باعث کاهش فعالیت انتقال گلوکوتایون به کیسه صفرا و کاهش غلظت گلوکوتایون در دسترس برای واکنش‌های کاهشی بیوشیمیایی می‌شود (۱۷). با وجود تمام مطالب بیان شده

پیشین، تعدادی از محققین پیشنهاد می‌دهند که روند کلی سمیت سلولی نانو ذرات نقره در میان انواع مختلف نانو ذرات مشابه است و استرس اکسیداتیو غیر اختصاصی یکی از بزرگ‌ترین نگرانی‌ها در سمیت ناشی از نانو ذرات است (۱۸).

بعضی از مطالعات گزارش می‌دهد که نقره و نمک‌های نقره در تمام بدن پراکنده شده و سرانجام در کبد، کلیه و طحال انباشته می‌شوند. مطالعات نشان داده است که نقره باعث نفوذ پذیری غشای سلول نسبت به سدیم و پتاسیم می‌شود و فعالیت Na-K ATPase و میتوکندری را مختل می‌کند (۱۹). مطالعات نشان داد که نانو ذرات نقره باعث سمیت کبد و کلیه و دوز بالای آن نیز منجر به مرگ می‌شود (۱۷).

ترکیبات نقره بر اساس نحوه در معرض قرار گرفتن می‌توانند از طریق دستگاه گوارش، پوست، دستگاه تنفسی و غشاهای مخاطی جذب شوند (۲۰). مسیر مهم و عمده جذب نانو ذرات مسیر خوراکی یا دستگاه گوارش است، این امر به دلیل کاربردهای متنوع نانو ذرات نقره در محصولات مصرفی از جمله کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی و بسته‌بندی مواد غذایی است (۲۱).

نظر به این که نانو ذرات نقره می‌توانند به‌طور مستقیم بر روی فعالیت طبیعی سلول‌های بدن تأثیر بگذارند و موجب اختلال در عملکرد اندام‌های بدن شوند (۲۲) و از آنجا که اطلاعات کمی درباره سمیت این مواد بر سیستم‌های زیستی از جمله انسان و مهره‌داران خشکی وجود دارد، بر آن شدیم تا سمیت این ذرات، بر روی پارامترهای بیوشیمیایی خون و الکترولیت‌ها را مورد بررسی قرار دهیم.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی نانو ذرات نقره مصرفی به‌صورت کلوییدی ۴۰۰۰ ذره در میلیون (ppm) و ساخت شرکت نانو ابزار پارس مورد استفاده قرار گرفت. برای تیمار حیوانات محلول ۲۰ ppm و ۵۰ ppm آن با رقیق‌سازی توسط آب مقطر تهیه شد. تعداد ۵۰ سر

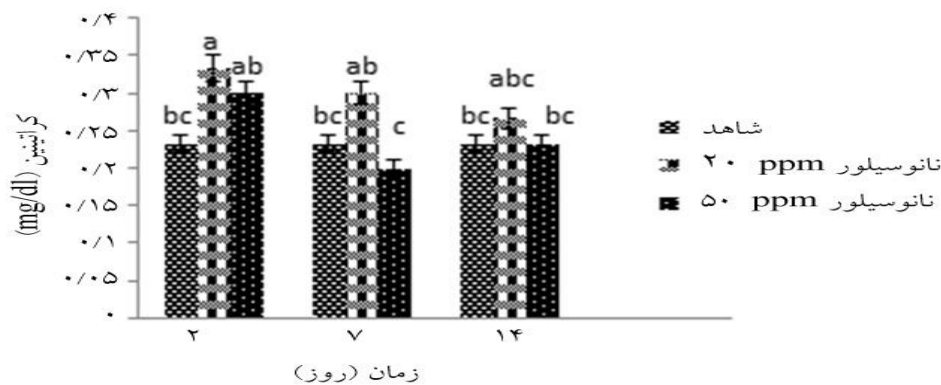
موش نر سفید نژاد بальب سی، دارای وزن ۲۵-۳۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد خریداری گردید و در شرایط دما و رطوبت مناسب و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تغذیه حیوانات از طریق پلت مخصوص حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت. آب کافی در دسترس حیوانات قرار گرفت. حیوانات به‌صورت تصادفی به ۳ گروه (هر گروه ۱۵ سر موش) شامل ۲ گروه تیمار و ۱ گروه کنترل تقسیم شدند. گروه تیمار یک: حیوانات این گروه، از روز آغاز تیمار یک بار در روز در زمان مشخصی میزان ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو ذرات نقره دریافت نمودند. گروه تیمار ۲: حیوانات این گروه، از روز آغاز تیمار یک بار در روز در زمان مشخصی میزان ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو ذرات نقره دریافت نمودند. گروه کنترل: حیوانات این گروه، از روز آغاز تیمار یک بار در روز آب مقطر دریافت نمودند. لازم به ذکر است که محلول به‌صورت خوراکی و توسط سرنگ انسولین (به مقدار ۵ سی‌سی) به دهان حیوانات ریخته می‌شد. هر ۳ گروه به مدت ۱۴ روز تحت تیمار قرار گرفتند. بعد از طی نمودن دوره تیمار، در روزهای متناوب ۲، ۷ و ۱۴، جهت مطالعات، عمل خون‌گیری به‌طور مستقیم از قلب آن‌ها صورت گرفت. حیوانات با ماده بیهوشی که ترکیبی از ۱۰ میلی‌لیتر کتامین، ۰/۵ میلی‌لیتر آسپارامازین، ۲ میلی‌لیتر دیازپام و کمتر از ۰/۵ میلی‌لیتر زایلازین بود با تزریق عضلانی (به مقدار ۵۰ mg/kg) بی‌هوش شدند و عمل خون‌گیری به‌صورت مستقیم از قلب آن‌ها برای سنجش فاکتورها صورت گرفت. پس از خون‌گیری، هر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید تا سرم از لخته جدا شود. سپس نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های مورد نظر (آنالیز بیوشیمیایی سرمی کراتینین، نیتروژن اوره خون، سدیم، پتاسیم) در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد منجمد و نگهداری شدند. اندازه‌گیری پتاسیم و سدیم به روش فلیم فوتومتری انجام شد و برای اندازه‌گیری BUN (نیتروژن اوره خون) و کراتینین از کیت تشخیص Urea

غلظت سرمی کراتینین نسبت به گروه شاهد به ترتیب به میزان ۳۰ درصد (گروه ۲۰ ppm) و ۶/۲۷ درصد (گروه ۵۰ ppm) می‌شود. میانگین سطح سرمی کراتینین در روز دوم، در گروه ۲۰ ppm نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$) در گروه ۵۰ ppm نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در روز ۷ و ۱۴ گروه ۲۰ ppm و ۵۰ ppm نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشته است ($P > 0/05$) (نمودار شماره ۱).

(شرکت پارس) و کراتینین استفاده شد. آنالیز واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS و به روش آنالیز واریانس دو طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سطح ($P < 0/05$) از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

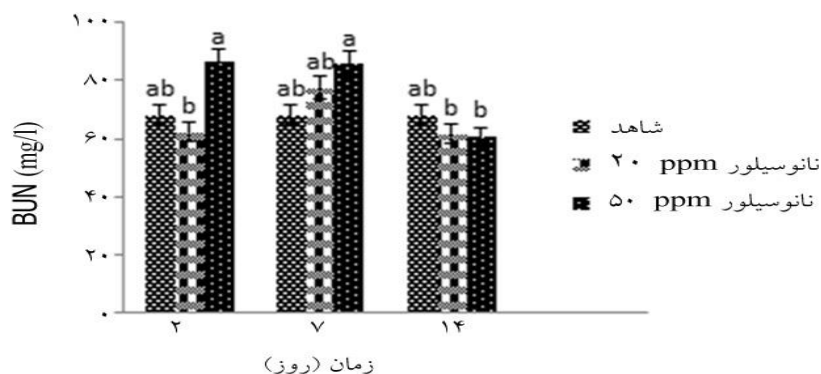
بررسی اثر سمیت نانو ذرات نقره در موش‌های سفید آزمایشگاهی نشان داد که این نانو ذرات در دو غلظت متفاوت ۲۰ ppm و ۵۰ ppm موجب افزایش



نمودار شماره ۱: تغییرات سرمی کراتینین در گروه شاهد، تیمار ۲۰ ppm و تیمار ۵۰ ppm موش‌های بальب سی داشتن حداقل یک حرف مشترک (a-b-c) در سطح احتمال ۵ درصد به مفهوم این است که تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

هفتم و چهاردهم در بین گروه شاهد و گروه ۲۰ ppm و ۵۰ ppm هیچ اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد (نمودار شماره ۲).

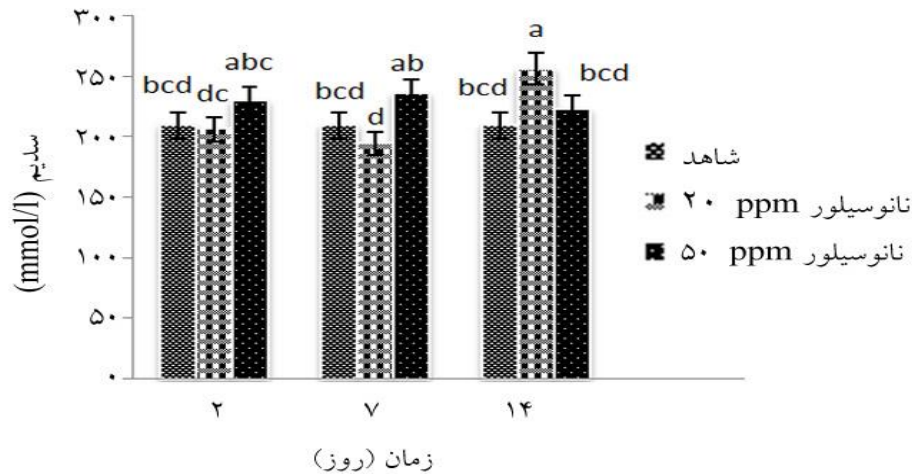
بررسی اثر سمیت نانو ذرات نقره در موش‌های سفید آزمایشگاهی نشان داد که مصرف نانو ذرات نقره با ۲ غلظت متفاوت ۲۰ ppm و ۵۰ ppm در روز دوم،



نمودار شماره ۲: تغییرات سطح سرمی BUN در گروه شاهد، تیمار ۲۰ ppm و تیمار ۵۰ ppm موش‌های نر داشتن حداقل یک حرف مشترک (a-b-c) در سطح احتمال ۵ درصد به مفهوم این است که تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

نانو ذرات نقره در روز چهاردهم اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد و غلظت ۲۰ ppm مشاهده شد. این افزایش غلظت سرمی سدیم نسبت به گروه شاهد در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار بود (نمودار شماره ۳).

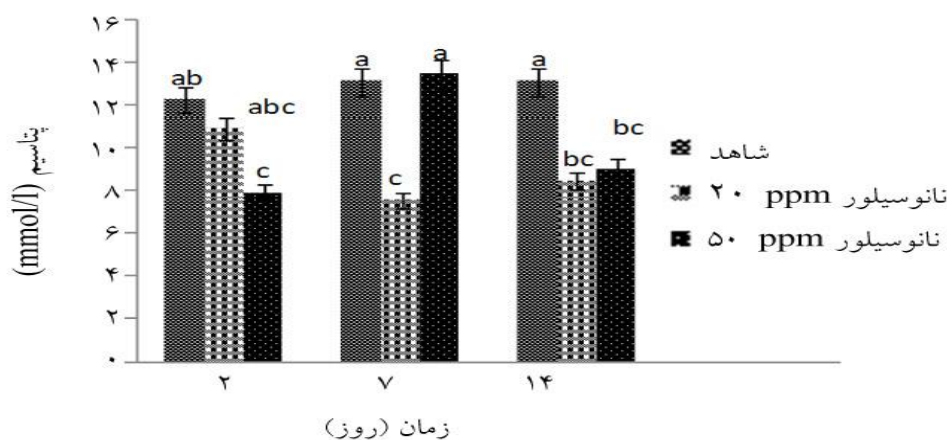
میزان سدیم سرم خون گروه‌های تیمار و شاهد به‌وسیله فلم فوتومتر سنجش شد و داده‌های حاصل از طریق روش آماری آنالیز واریانس دوطرفه و پس‌آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شدند. بر اساس نتایج حاصله مصرف



نمودار شماره ۳: تغییرات سطح سرمی سدیم در گروه شاهد، تیمار ۲۰ ppm و تیمار ۵۰ ppm موش‌های بальب سی داشتن حداقل یک حرف مشترک (a-b-c) در سطح احتمال ۵ درصد به مفهوم این است که تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

گروه ۵۰ ppm و در روز هفتم در گروه ۲۰ ppm در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) نشان داد. در روز چهاردهم نیز سنجش پتاسیم در دو غلظت ۲۰ ppm و ۵۰ ppm در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از سنجش میزان پتاسیم نشان داد که مصرف نانو ذرات نقره با دوز ۲۰ ppm و ۵۰ ppm سبب کاهش غلظت سرمی پتاسیم نسبت به گروه شاهد می‌شود که این کاهش در سطح $P < 0.05$ معنی‌دار بود (نمودار شماره ۴). میزان پتاسیم در روز دوم در



نمودار شماره ۴: تغییرات سطح سرمی پتاسیم در گروه شاهد، تیمار ۲۰ ppm و تیمار ۵۰ ppm موش‌های بальب سی داشتن حداقل یک حرف مشترک (a-b-c) در سطح احتمال ۵ درصد به مفهوم این است که تفاوت معنی‌دار آماری ندارند.

بحث:

در مطالعه حاضر که با بررسی اثر خوراکی نانو ذرات نقره بر روی پارامترهای بیوشیمیایی خون و الکترولیت‌های خون انجام شد، نتایج افزایش معنی‌داری را در سطح کراتینین سرم در روز دوم و در غلظت ۲۰ ppm نشان می‌دهد.

تعیین سمیت نانو ذرات در شرایط *in vivo* از اهمیت خاصی برخوردار است. نانو ذرات نقره به‌طور مستقیم می‌توانند بر روند فعالیت طبیعی سلول‌های بدن تأثیر بگذارند و باعث اختلال در عملکرد اندام‌های بدن شوند (۲۳). نانو ذرات نقره از طریق استرس اکسیداتیو درون سلولی می‌توانند به سلول‌ها آسیب بزنند (۲۴، ۲۵) پاسخ التهابی در کلیه نشان‌دهنده آسیب به ظرفیت فیلتراسیون کلیه است (۱۶). اندازه‌گیری کراتینین سرم رایج‌ترین شاخص مورد استفاده برای عملکرد کلیوی است. سطح بالای کراتینین نشان می‌دهد که کلیه‌ها به‌درستی عمل نمی‌کنند؛ بنابراین GFR (میزان تصفیه گلوبولی) به‌عنوان بهترین شاخص کلی عملکرد کلیه در موش‌ها با ارزیابی سطح سرمی کراتینین مشخص می‌شود. افزایش کراتینین نشان‌دهنده آسیب کلیه است (۱۷). نتایج این تحقیقات با نتایج مطالعه ما تا حدودی همخوانی دارد و می‌توان چنین استنباط نمود که نانو ذرات نقره باعث تجمع سلول‌های آماسی و آسیب‌های بافتی در کلیه شده و پاسخ التهابی در کلیه نشان‌دهنده آسیب به ظرفیت فیلتراسیون کلیه است و افزایش در سطح کراتینین بهترین تأیید کننده آسیب کلیه است.

سمیت تحت مزمن نانو ذرات نقره استنشاقی در رت‌ها توسط Sung و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه تغییرات قابل‌توجهی را در سطوح کراتینین و اوره سرم خون در رت‌ها نشان نداد (۲۶).

Hendi اثرات نانو ذرات نقره را بر عملکرد کلیه طی ترمیم زخم در رت‌های ویستار بررسی نمود. در این مطالعه تغییرات قابل توجهی در سطح اوره و کراتینین سرم خون مشاهده نشد. اوره محصول شکستن و تجزیه

پروتئین‌ها است. اوره از طریق ادرار دفع می‌شود. افزایش سطح اوره در سرم خون نشان‌دهنده عدم عملکرد صحیح کلیه است، یا اینکه بدن دچار کم‌آبی شده است (۱۷). در مطالعه‌ای سمیت خوراکی نانو ذرات نقره (۶۰ نانومتر) در طی یک دوره ۲۸ روز در رت‌های نژاد Sprague-Dawley مورد بررسی قرار گرفت، رت‌ها به مدت ۲۸ روز در معرض تجویز خوراکی نانو ذرات نقره ۶۰ نانومتر با دوز (۳۰ mg/kg، ۳۰۰ mg/kg، ۱۰۰۰ mg/kg) قرار گرفتند و فاکتورهای بیوشیمی خون، آسیب‌های بافتی و توزیع نقره در اندام‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات قابل‌توجهی در فاکتورهای بیوشیمی سرم خون در گروه تحت درمان با نانو ذرات ۱۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مشاهده شد. تجمع نانو ذرات نقره در بافت‌ها به‌صورت وابسته به دوز مشاهده شد (۱۶).

در مطالعه‌ای دیگر نانو ذرات نقره ۱ mg/kg در اندازه‌های کوچک (۲۲ nm، ۴۲ nm و ۷۱ nm) به مدت ۱۴ روز به‌صورت خوراکی تجویز شد. نتایج تجمع نانو ذرات نقره در اندام‌های مختلف از جمله مغز، ریه، کبد، کلیه و بیضه‌ها را نشان داد؛ اما تجمع نانو ذرات با اندازه‌ی بزرگ‌تر (۳۲۳ nm) فقط در بیضه‌ها مشاهده شد (۲۷).

در این مطالعه که با هدف بررسی اثر خوراکی نانو ذرات نقره بر روی سطوح سرمی الکترولیت‌های خون در موش سفید آزمایشگاهی انجام شد، تغییرات قابل توجهی بر روی سطوح سرمی سدیم و پتاسیم مشاهده گردید. مطالعات فراوانی تأیید کننده اثرات سمی نانو ذرات نقره بر عملکرد ارگان‌های مختلف هستند که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارند، در مطالعه‌ای، نانو ذرات نقره ۵۰-۱۰ نانومتری باعث ایجاد اختلال در سطوح پتاسیم و نیتروژن اوره خون (BUN) شدند که نشان می‌دهد این نانو ذرات در اندازه‌های خاص دارای اثرات سمی بر روی پارامترهای بیوشیمیایی بدن است (۲۸).

در مطالعه‌ای که توسط Kim و همکاران انجام گرفت. وقتی رت‌ها به مدت ۲۸ روز در معرض نانو ذرات نقره (اندازه: ۴۲ nm، دوزهای ۰/۲۵ mg/kg، ۰/۵ mg/kg و ۱ mg/kg) به صورت خوراکی قرار گرفتند، در سطح BUN و کراتینین افزایش قابل توجهی مشاهده نشد؛ اما آسیب‌های بافتی در کبد و کلیه در دوز بسیار پایین نانو ذرات نقره مشاهده شد، اما پاسخ‌های التهابی در کلیه مشاهده شد. به نظر می‌رسید که پاسخ التهابی بیش از حد در کلیه نشان‌دهنده آسیب به ظرفیت فیلتراسیون کلیه است (۱۶).

در این مطالعه تغییرات قابل توجهی در سطوح سدیم و پتاسیم سرم مشاهده شد. این نتیجه مشابه نتایج مطالعه‌ای است که توسط Oberdo و Lam انجام گرفته است. بعضی مطالعات گزارش می‌دهند که نقره و نمک‌های نقره می‌توانند در تمام بدن منتشر شده و در نهایت در کبد و کلیه انباشته شوند، بررسی‌ها نشان می‌دهد که نقره باعث نفوذپذیری غشای سلول نسبت به سدیم و پتاسیم شده و فعالیت پمپ Na-K ATPase و میتوکندری را مختل می‌کند و باعث تغییر سطوح سدیم و پتاسیم در سرم خون می‌شود (۱۹). در مطالعه حاضر میانگین سطح سرمی سدیم در روز چهاردهم در گروه ۲۰ ppm نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. میانگین سطح سرمی پتاسیم نیز در روز دوم، در گروه ۵۰ ppm نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت و روز هفتم در گروه ۲۰ ppm نسبت به شاهد کاهش و در روز چهاردهم هر دو گروه ۲۰ ppm و ۵۰ ppm نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. نتایج مطالعه حاضر با مطالعات مذکور هم‌خوانی دارد و نانو ذرات سبب اختلال در فعالیت پمپ Na-K ATPase شده و احتباس پتاسیم در داخل سلول بیشتر شده و تغییراتی در سطوح سدیم و پتاسیم مشاهده شد.

شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد نانو ذرات نقره باعث تغییر در نفوذپذیری غشای سلول نسبت به سدیم و پتاسیم می‌شود (۲۹).

نگهداری حجم مایع خارج سلولی در کلیه‌ها از نقش‌های مهم کلیه است که از طریق سدیم، تنظیم می‌شود. غلظت سدیم به‌طور جدایی‌ناپذیر با غلظت مایع خارج سلولی (ECF) مرتبط است؛ بنابراین در تفسیر سطوح سدیم باید وضعیت هیدراتاسیون بیمار در نظر گرفته شود. سطح بالای سدیم خون ممکن است به علت مصرف آب ناکافی و کم‌آبی باشد (۳۰).

Kim و همکاران گزارش کردند زمانی که نانوذرات نقره از طریق خوراکی، استنشاق یا پوستی وارد بدن می‌شود به گردش خون انتقال یافته و در برخی از اندام‌ها تجمع می‌یابد (۲۴). نانو ذرات نقره از طریق مکانیسم‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو باعث آسیب DNA در سلول‌های پستانداران می‌شود و به طور قابل توجهی مرگ سلولی را افزایش می‌دهد (۳۱).

Stepien و همکاران سمیت نانو ذرات نقره را طی مصرف خوراکی آن در خوکچه هندی بررسی نمودند. نتایج نشان داد که نانو ذرات نقره می‌توانند به درون جریان خون راه یافته و در برخی از اندام‌ها از جمله کبد و کلیه انباشته شوند که این امر موجب القا سمیت هپاتوسیت‌ها و کلیه می‌شود و در صورتی که تماس با نانو ذرات نقره زیاد و طولانی مدت باشد ممکن است منجر به مرگ شود (۳۲).

نانو ذرات نقره در بافت‌های مختلف موجودات زنده به دنبال بلع دهانی، استنشاقی و تماس با پوست، جذب شده و در بافت‌های مختلف توزیع می‌شوند؛ بنابراین سمیت نانو ذرات نقره برای بافت‌های مختلف بدن بعد از جذب نیاز به مطالعه بیشتر دارد. مطالعات نشان داده است تزریق داخل وریدی نانو ذرات (۵۰ nm) در رت به بافت‌های کبد، کلیه و ریه آسیب می‌رساند (۳۳).

نتیجه‌گیری:

در مطالعه حاضر اثر سمیت محلول نانو ذرات نقره خوراکی ۲۰ ppm و ۵۰ ppm بر روی برخی پارامترهای بیوشیمیایی کلیه و الکترولیت‌های خون مشاهده شد و به‌طور

تشکر و قدردانی:

این تحقیق بخشی از نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد است و بدین‌وسیله از کلیه اساتید و همچنین کارکنان آزمایشگاه فارماکولوژی دانشگاه شهرکرد که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

خلاصه می‌توان نتیجه گرفت که نانو ذرات نقره به‌طور مستقیم می‌توانند بر روند فعالیت طبیعی سلول‌های بدن تأثیر بگذارند و باعث اختلال در عملکرد اندام‌های بدن شوند. البته با بررسی سطح نقره در خون و سنجش بیومارکرهای استرس اکسیداتیو می‌توان اثرات این نانو ذرات را بهتر توجیه کرد، بنابراین این موضوع نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

منابع:

1. Borzelleca JF, Hallagan JB. Chronic toxicity/carcinogenicity studies of FD & C Yellow No. 5 (tartrazine) in rats. Food Chem Toxicol. 1988; 26(3): 179-87.
2. Hallagan JB, Allen DC, Borzelleca JF. The safety and regulatory status of food, drug and cosmetics colour additives exempt from certification. Food Chem Toxicol. 1995; 33(6): 515-28.
3. Zou T, He P, Yasen A, Li Z. Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors. Food Chem. 2013; 138(2-3): 1742-8.
4. Park M, Park HR, Kim SJ, Kim MS, Kong KH, Kim HS, et al. Risk assessment for the combinational effects of food color additives: neural progenitor cells and hippocampal neurogenesis. J Toxicol Environ Health A. 2009; 72(21-22): 1412-23.
5. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Food Colours. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 2013. Available from: <http://www.isiri.org/portal/files/std/740.pdf>.
6. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Confectionary products – Poolaky – Specification and test method. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2006. Available from: <http://www.isiri.org/portal/files/std/8538.pdf>.
7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Candy sugar– Specifications and test methods. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2009. Available from: <http://www.isiri.org/portal/files/std/739.pdf>.
8. Yoshioka N, Ichihashi K. Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. Talanta. 2008; 74(5): 1408-13.
9. Moradi-Khatonabadi Z, Amirpour M, AkbariAzam M. Synthetic food colours in saffron solutions, saffron rice and saffron chicken from restaurants in Tehran, Iran. Food Addit Contam Part B Surveill. 2015; 8(1): 12-7.
10. Rezaei M, Abadi FS, Sharifi Z, Karimi F, Alimohammadi M, Abadi RAS, et al. Assessment of Synthetic Dyes in Food Stuffs Produced in Confectioneries and Restaurants in Arak, Iran. Thrita. 2015; 4(1): e22776.
11. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Permitted food additives- syntetic food colours in food- identification by tine layer chromatography- test method. Tehran: Iranian National Standard Organization; 2013.
12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Saffron- Test methods. Tehran: Iranian National Standard Organization; 2013.
13. Elliott C, Haughey S, Galvin-King MP. Development of the Food Alert database and piloting Food Fingerprinting. [Internet]. London: Institute for Global Food Security, Queen's

- University Belfast, 2013. Available from: https://www.food.gov.uk/sites/default/files/842-1-1542_FS204012_FINAL_DRAFT_211113.pdf.
14. Rowe KS, Rowe KJ. Synthetic food coloring and behavior: a dose response effect in a double-blind, placebo-controlled, repeated-measures study. *J Pediatr*. 1994; 125(5 Pt 1): 691-8.
 15. Arast Y, Mohamadian M, Noruzi M, Ramuz Z. Surveillance on Artificial Colors in Different Confectionary Products by Chromatography in Qom. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013; 15(3): 62-4.
 16. Ha MS, Ha SD, Choi SH, Bae DH. Exposure assessment of synthetic colours approved in Korea. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2013; 30(4): 643-53.
 17. Dixit S, Purshottam SK, Gupta SK, Khanna SK, Das M. Usage pattern and exposure assessment of food colours in different age groups of consumers in the State of Uttar Pradesh, India. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2010; 27(2): 181-9.
 18. Rao P, Sudershan R. Risk assessment of synthetic food colours: a case study in Hyderabad, India. *Int J Food Saf Nutr Publ Health*. 2008; 1(1): 68-87.
 19. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Ziaee T, Danaee A. Protective effect of aqueous saffron extract (*Crocus sativus* L.) and crocin, its active constituent, on renal ischemia-reperfusion-induced oxidative damage in rats. *J Pharm Pharm Sci*. 2005; 8(3): 387-93.
 20. Lancaster FE, Lawrence JF. Thermal decomposition of the food colours amaranth, sunset yellow FCF and tartrazine in the presence of sucrose and glucose. *Food Addit Contam*. 1986; 3(4): 295-303.
 21. Lehtihet M, Nygren A. Licorice--an old drug and currently a candy with metabolic effects. *Lakartidningen*. 2000; 97(36): 3892-4.
 22. Stevens LJ, Burgess JR, Stochelski MA, Kuczek T. Amounts of artificial food colors in commonly consumed beverages and potential behavioral implications for consumption in children. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014; 53(2): 133-40.
 23. Stevens LJ, Kuczek T, Burgess JR, Stochelski MA, Arnold LE, Galland L. Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. *Nutr Rev*. 2013; 71(5): 268-81.

The effects of silver nanoparticles on Creatinine, BUN and blood electrolytes in laboratory male mice (*Mus musculus*)

Jafarzadeh Samanai R, Heydarnejad MS*, Aghayeevanda S

Zoology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran.

Received: 24/Oct/2014 Accepted: 23/Feb/2015

Background and aims: Recently, it has been paid attention to silver nanoparticles (SNPs), but less attention has been to their toxicity. This study was aimed to investigate acute effects of oral silver nanoparticles (SNPs) on biochemical parameters of kidney (Creatinine and BUN) and blood electrolytes in laboratory male mice (*Mus musculus*).

Methods: In this experimental study, A group 45 BALB/c mice about 4 weeks (weighting 24.2 ± 3.0 g) were randomly divided into three groups: 2 nanosilver (SNPs) treatments (1,2) and one control group, each with 15 mice. Once a day at the same time, a volume of 50 microliters from the nanosilver solution (20 and 50 ppm) was administered to the treatment groups while in the untreated (control) group only distilled water was used. Then, on 2, 7, and 14 day, blood sampling was done using cardiac puncture. Serum level of creatinine, BUN, sodium and potassium were measured in the control and treatments (20ppm-treated group and 50ppm-treated group). Data were analyzed using SPSS software and two way ANOVA test at significant level of $P < 0.05$.

Results: On day 2 of the experiment, average level of creatinine of 20ppm-treated group was significantly higher than to the control group ($P > 0.05$), but levels of blood urea nitrogen in both 20- and 50ppm-treated groups compared to the control were not significant ($P > 0.05$). In addition, average sodium level of 20ppm-treated group showed a significant increase in relation to the control group on day 14 ($P < 0.05$). Average potassium level of 50ppm-treated group showed a significant decrease in relation to the control group on day 2 ($P < 0.05$). Moreover, average potassium level in 20ppm-treated group on day 7 and in both 20- and 50ppm-treated groups on day 14 decreased significantly ($P < 0.05$).

Conclusion: This study showed that orally-administered SNPs may have negative effects on the biochemical parameters of kidney and blood electrolytes. They should be applied cautiously.

Keywords: Silver nanoparticles (SNPs), Biochemical parameters Creatinine, Blood urea nitrogen (BUN), Sodium. Potassium.

Cite this article as: Jafarzadeh Samanai R, Heydarnejad MS, Aghayeevanda S. The effects of silver nanoparticles on Creatinine, BUN and blood electrolytes in laboratory male mice (*Mus musculus*). J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(5): 64-73.

***Corresponding author:**

Zoology Dept., University of Shahrekod, Shahrekod, I.R. Iran; Tel: 00989173083810,
E-mail: m_heydarnejad@yahoo.com